

## 柽柳根对管花肉苁蓉寄生的反应

骆翔, 朱艳霞, 赵东平, 郭玉海\*

中国农业大学农学与生物技术学院中药材研究中心, 北京100193

**摘要:** 采用石蜡切片技术以及酶联免疫法对管花肉苁蓉的寄主柽柳根进行研究, 结果表明: 接种有管花肉苁蓉的柽柳根随着管花肉苁蓉的生长而增粗, 其初生导管有黄色粘性物质阻塞, 这些阻塞物中含有糖类和脂类物质, 随着管花肉苁蓉的生长而消失。这可能与柽柳根内源激素脱落酸(ABA)和茉莉酸(JA)的调控有关。

**关键词:** 管花肉苁蓉; 柽柳; 阻塞物; 植物激素

## Parasitism Response of *Cistanche tubulosa* (Schenk) R. Wight in *Tamarix chinensis* Lour. Root

LUO Xiang, ZHU Yan-Xia, ZHAO Dong-Ping, GUO Yu-Hai\*

Chinese Medicinal Herbs Research Center, College of Agronomy and Biotechnology, China Agriculture University, Beijing 100193, China

**Abstract:** The roots of *Tamarix chinensis* parasitised by *Cistanche tubulosa* were studied by paraffin-section method and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results showed that the host roots got thicker with weight increasing of *C. tubulosa*. Yellow sticky obstruction, composed by polysaccharide and lipid, was found in primary xylem vessel of the host after stimulated by *C. tubulosa*, but disappeared along with the growth of *C. tubulosa*. It was supposed to be regulated by endogenous jasmonic acid (JA) and abscisic acid (ABA).

**Key words:** *Cistanche tubulosa*; *Tamarix chinensis*; obstruction; phytohormones

管花肉苁蓉为濒危药用植物, 为保护管花肉苁蓉资源以及保证药业对管花肉苁蓉药材原料持续增长的需求, 对管花肉苁蓉栽培技术和扩大药源基地等进行了许多研究。杨太新等(2005b)于2001年引种管花肉苁蓉至华北平原栽培, 详细研究了管花肉苁蓉的种子萌发(乔学义等2007)、寄生过程(王华磊等2005)、寄生环境(杨太新等2005a)和接种技术(杨太新等2005c), 建立了管花肉苁蓉综合栽培技术。同时, 研究还发现, 管花肉苁蓉寄生在柽柳上后, 管花肉苁蓉可影响寄主柽柳的光合作用(郭东锋等2009a)、矿质元素含量(郭东锋等2009b)等, 但是管花肉苁蓉对柽柳根内部结构的影响鲜有报道。管花肉苁蓉的接种率(接种管花肉苁蓉的柽柳根数与总接种根数的百分比)较低, 是限制其高产的关键问题。本文报道了管花肉苁蓉侵入柽柳根过程中, 在柽柳根的管花肉苁蓉寄生部位初生导管中的阻塞现象、阻塞物的组成以及寄生前后柽柳根内源激素含量的变化, 探讨了管花肉苁蓉幼小时黑死的原因, 并为如何解决此问题提供理论基础, 从而为提

高管花肉苁蓉的产量提供参考。

## 材料与方法

### 1 材料

管花肉苁蓉[*Cistanche tubulosa* (Schenk) R. Wight]种子采集于新疆, 千粒重0.0785 g。经检测, 其种子萌发率为78%。接种用寄主为中国柽柳(*Tamarix chinensis* Lour.), 取自中国农业大学北京市上庄试验基地。取长15 cm的柽柳茎段插入直径为15 cm的营养钵中, 均匀撒入管花肉苁蓉种子100粒, 覆土。种苗地位于中国农业大学上庄试验站。

### 2 方法

接种当年秋季进行破坏性取材, 用游标卡尺测

收稿 2010-09-01 修定 2010-10-22

资助 农业行业专项(200903001-2-3)、北京市科技计划(D07060200880701)、河北省科技攻关项目(03276408D-4)。

\* 通讯作者(E-mail: yhguo@cau.edu.cn; Tel: 010-62733853)。

量接种根粗, 测量部位为每条根近茎端3 cm, 采用万分之一天平称量接种根所对应的管花肉苕蓉质量, 经过大量取材后进行相关性分析。

接种管花肉苕蓉的柞柳, 其根系中每条根按管花肉苕蓉的有无, 分为两种根: 带管花肉苕蓉的根称接种根, 不带管花肉苕蓉的根称为非接种根。分别取相同粗度的接种根和非接种根各3根, 粗度分别为3.3、4.2、5.0和6.0 mm, 洗净后放入FAA(70%酒精+5%甲醛+5%乙酸)中备用。同时取相同粗度的接种根和非接种根(每种粗度3个重复), 直接置于液氮中处理0.5 h后转移至-20 °C冰箱内保存备用。

接种根和非接种根导管形态观察采用徒手切片法和石蜡切片法(李和平2009), 番红-固绿对染, 木质部成分着绿色, 而韧皮部成分着红色。测定导管阻塞物中多糖和脂类时, 分别采用PAS染色法和苏丹III染色法(O'Brien和McCully 1981)。在PAS染色过程中, 糖类物质以及粘蛋白均着红色, 而在苏丹III染色的过程中脂类物质着橙红色。采用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定柞柳根内源激素脱落酸(abscisic acid, ABA)和茉莉酸(jasmonic acid, JA)含量。

## 结果与讨论

### 1 接种根初生导管内阻塞及其变化

在显微镜下观察了所取材料的解剖结构, 发现有黄色的粘性物质存在于接种根的初生导管中(图1-A), 而非接种根的初生导管则未发现此类物质(图1-B)。说明柞柳根对管花肉苕蓉侵入具有主动抵抗反应, 形式是在部分中央导管中存在某种黄色阻塞物质。

接种根的初生导管中的阻塞物存在以及柞柳根的粗度, 与管花肉苕蓉的大小具有相关性(图2、表1)。随着管花肉苕蓉的长大, 其寄主柞柳根的直径呈现开始增长快, 后面趋于缓和的状态。单株管花肉苕蓉鲜重为13.0 g、根粗3.3 cm时, 接种根的初生导管中存在阻塞物; 单株管花肉苕蓉19.8 g、根粗4.2 cm以上时, 接种根的初生导管中未见阻塞物存在。可见阻塞物随着管花肉苕蓉重量的增加而消失, 这种情况的发生与根粗也存在一定关系。推测阻塞物的形成是管花肉苕蓉和寄主根相互作用的早期事件。

### 2 接种根初生导管内阻塞物的成分

采用番红-固绿法进行染色, 接种根的初生导

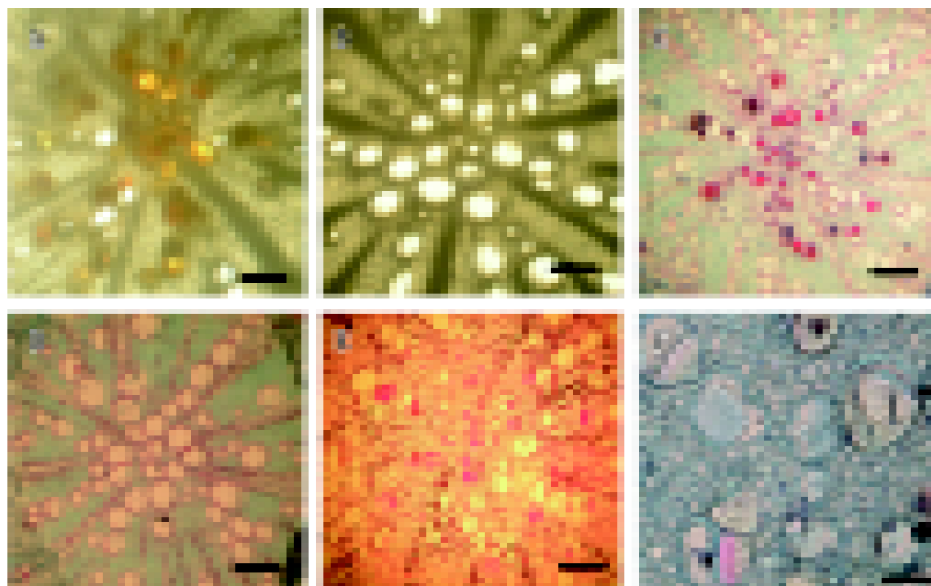


图1 不同染色方法下接种与非接种柞柳根的横切观察

Fig. 1 Cross-sections of the non-infected and infected roots of *T. chinensis* by different staining methods

A: 接种根的徒手切片; B: 非接种根的徒手切片; C: 接种根的番红-固绿染色观察; D: 非接种根的番红-固绿染色观察; E: 接种根的PAS染色; F: 接种根苏丹III染色。bar=100 μm。

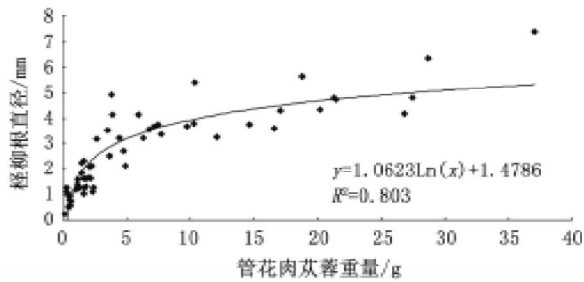


图2 柽柳根直径与管花肉苁蓉重量的关系

Fig. 2 The relationship between weight of *C. tubulosa* and diameter of *T. chinensis*

表1 管花肉苁蓉重量和导管阻塞的关系

Table 1 The relationship between the weight of *C. tubulosa* and obstruction in root vessel

管花肉苁蓉重量/g·株 <sup>-1</sup>	阻塞情况
13.0	有
19.8	无
24.0	无
30.2	无

管内阻塞物呈红色(图1-C), 说明在阻塞物中含有木质化或者栓化的物质, 这种物质的产生可能与管花肉苁蓉侵入过程中溶解木质部细胞壁相关; 而非接种根的初生导管部分未见有红色出现(图1-D), 呈中空状态。阻塞物经PAS染色后, 被染为红色。非接种根中只有导管细胞壁纤维素呈红色(图1-E), 而导管中央并未呈现红色, 说明阻塞物中含糖类物质或者含有粘蛋白类物质。由于该物质可能由管花肉苁蓉侵入过程中分解的细胞壁成分组成, 而细胞壁的组成中主要是以纤维素及半纤维素等多糖类物质为主, 因此粘蛋白的含量较小, 该物质组成中大部分应为多糖类物质。经苏丹III染色后阻塞物呈现出较浅的橙红色(图1-F), 因此, 阻塞物中也含有脂类物质。接种根初生导管阻塞物中有糖类和脂类物质的成分, 推测阻塞物与胼胝质性质相似, 值得深入探讨。

### 3 柽柳根内源JA和ABA含量的变化

柽柳根在寄生管花肉苁蓉之后, 其内源JA含量在管花肉苁蓉刚刚侵入时发生急剧升高, 而后随着柽柳根的增粗逐渐降低, 但非接种根中JA却基本处于同一水平上。此外, 接种根内源JA含量均高

于非接种根(图3-A)。柽柳根内源ABA含量的变化与JA类似(图3-B)。

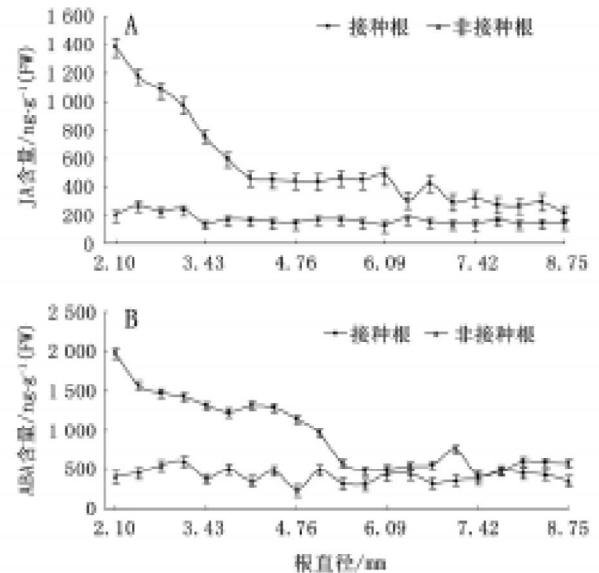


图3 接种和非接种柽柳根中JA和ABA含量的变化

Fig. 3 Changes in JA and ABA contents in the non-infected and infected roots of *T. chinensis*

本文结果表明, 柽柳根对管花肉苁蓉的侵入产生导管阻塞反应。已有研究表明, 寄主对寄生植物的抗性主要包括两个方面: 首先, 寄主植物会通过分泌一些植物激素以及寄主本身的形态学变化来阻止寄生植物的侵入, 如向日葵分泌香豆素来阻止寄生列当的侵入(Serghini等2001), 这种阻止作用还表现在寄主细胞壁的加厚, 使得寄生植物无法成功侵入(Labrousse等2001); 其次, 如果寄生植物能够打破第一层阻碍并通过吸器与寄主建立连接, 寄主植物便会通过将侵入点细胞黑化以及阻塞本身导管, 使得已经建立连接的寄生植物死亡(Perez-de-Luque等2006)。另外, 植物内源JA和ABA均与抗逆有关(张春梅等2008), 在植物体本身遇到逆境时, 其在植物体内会大量合成, 并随之产生一系列的生理生化反应。在本试验中, 柽柳接种根的导管出现局部阻塞, 主要发生在中心导管部位, 这种现象在管花肉苁蓉幼期可能会降低寄主物质向管花肉苁蓉的运输而导致其死亡, 从而降低接种率, 但是阻塞随着管花肉苁蓉长大而消失。从产生原因上看, 这种阻塞作用可能与内源激素的调节相关, 尤其是JA

以及ABA的含量升高相关;从时间段看,可能是柽柳根在刚开始被肉苁蓉接种时对入侵产生的抗逆反应。关于柽柳根和管花肉苁蓉的早期相互作用,特别是阻塞物的形成、时间过程、影响因素及其作用机制以及对管花肉苁蓉接种及生长的影响还需要进一步深入研究。

### 参考文献

- 郭东锋, 郭玉海, 黄勇 (2009a). 管花肉苁蓉的寄生对柽柳光合特性的影响. 安徽农业科学, 37 (23): 11293~11295
- 郭东锋, 郭玉海, 黄勇, 路正营 (2009b). 管花肉苁蓉不同部位主要矿物质元素含量研究. 安徽农业科学, 37 (22): 10494~10495, 10499
- 李和平 (2009). 植物显微技术. 第2版. 北京: 科学出版社
- 乔学义, 王华磊, 郭玉海 (2007). 一种刺激肉苁蓉种子萌发和吸器发育的方法. 植物学通报, 24 (4): 521~525
- 王华磊, 杨太新, 杨重军, 翟志席, 郭玉海 (2005). 管花肉苁蓉种子萌发和寄生过程的形态学研究. 中国中药杂志, 30 (23): 1812~1814
- 杨太新, 王华磊, 郭玉海, 翟志席, 王树安, 鲁来清, 于国建 (2005a). 华北平原管花肉苁蓉寄生环境研究. 中国中药杂志, 30 (17): 1380~1383
- 杨太新, 王华磊, 王长林, 翟志席, 王树安, 郭玉海 (2005b). 华北平原管花肉苁蓉引种试验研究. 中国农业大学学报, 10 (1): 27~29
- 杨太新, 王华磊, 王长林, 翟志席, 王树安, 郭玉海 (2005c). 管花肉苁蓉田间接种技术研究. 中国中药杂志, 30 (7): 488~490
- 张春梅, 邹志荣, 张志新, 黄志 (2008). 聚乙二醇胁迫下的番茄幼苗内 ABA、JA 和多胺含量以及多胺氧化酶活性的变化. 植物生理学通讯, 44 (4): 689~692
- Labrousse P, Arnaud MC, Serieys H, Berville A, Thalouarn P (2001). Several mechanisms are involved in resistance of *Helianthus* to *Orobanche cumana* Wallr. Ann Bot, 88: 859~868
- O'Brien TP, McCully ME (1981). The Study of Plant Structure: Principles and Selected Methods. Melbourne, Australia: Termarcaphi Pty Ltd
- Perez-de-Luque A, Lozano MD, Cubero JJ, Gonzalez-Melendi P, Risueno MC, Rubiales D (2006). Mucilage production during the incompatible interaction between *Orobanche crenata* and *Vicia sativa*. J Exp Bot, 57: 931~942
- Serghini K, Perez-de-Luque A, Castejon-Munoz M, Garcia-Torres L, Jorriin JV (2001). Sunflower (*Helianthus annuus* L.) response to broomrape (*Orobanche cernua* Loefl.) parasitism: induced synthesis and excretion of 7-hydroxylated simple coumarins. J Exp Bot, 52: 2227~2234